

Title	Enhanced Tumor-Specific Long-Term Immunity of Hemagglutinating Virus of Japan-Mediated Dendritic Cell-Tumor Fused Cell Vaccination by Coadministration with CpG Oligodeoxynucleotides
Author(s)	平岡, 和也
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46180
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	ひら 岡 かず や 也
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 19867 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 17 年 12 月 26 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Enhanced Tumor-Specific Long-Term Immunity of Hemagglutinating Virus of Japan-Mediated Dendritic Cell-Tumor Fused Cell Vaccination by Coadministration with CpG Oligodeoxynucleotides (HVJ による樹状細胞-癌細胞融合で生じた融合細胞を用いた癌ワクチン療法の抗腫瘍効果は、CpG オリゴヌクレオチドの併用で増強する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 荻原 俊男 (副査) 教 授 野口眞三郎 教 授 宮坂 昌之

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

従来の方で治療した癌患者に対する癌特異的免疫療法による補助療法は、癌の再発予防、微小残存癌・微小転移癌を根絶しうる方法として期待されている。また、癌発症の可能性が極めて高い潜在患者に対しては、癌ワクチンとして期待されている。

樹状細胞 (DC) は抗原提示細胞として naive T cell に癌抗原を提示し癌特異的 CTL を誘導して癌免疫を惹起するとされるが、実際の体内では癌細胞が有する免疫逃避能により CTL 誘導率は一般に低い。また、DC に癌抗原を認識させる方法として精製された癌抗原ペプチド (Ag) を DC にパルスする方法があるが、Ag と MHC の親和性が低い、複数の Ag をパルスしてもなお癌細胞は免疫逃避する、単離精製された Ag はわずかであり大多数の癌は抗原が未同定という問題がある。

今回我々は、DC と癌細胞を ex vivo で融合させることで DC に Ag を認識させ、この融合細胞 (FC) をマウスに接種して癌ワクチン効果を検討した。さらに、体内を CTL が誘導されやすい Th1 環境にするアジュバントとして CpG オリゴヌクレオチド (CpG) を併用したときの効果を検討した。

〔方法ならびに成績〕

1. DC と癌細胞の融合には、従来のポリエチレングリコール (PEG) ではなく UV で不活化した HVJ (センダイウイルス) を用いた。PEG に比し、HVJ を用いることで低い細胞毒性で再現性よく融合効率 20-30% で FC を作成しえた。また、HVJ で融合した FC は DC と癌細胞の両方の特性を持つことを証明した。
2. 不活化 HVJ で融合した FC および未融合 DC の表面マーカーを FACS で解析したところ、融合前後で表面マーカーの発現量に変化はなかったことから不活化 HVJ によるアジュバント効果は弱いと考えられた。融合後 CpG を添加して一晩培養したところ、表面マーカーの発現量は増強し、上清中の Th1 サイトカイン (TNF- α 、IL-12) 産生量は DC と癌細胞の混合細胞に CpG を添加した場合よりも有意に増強したことから、CpG は未融合 DC のみならず FC の成熟、活性化を強く促進することが分かった。

3. FC をマウスに接種して癌ワクチン効果を検討した。FC (DC-B16BL6 メラノーマ融合細胞または DC-RENCA 腎癌融合細胞) を2回接種後 10 日目に脾臓を摘出し CTL の抗腫瘍効果を検討したところ、FC 単独ワクチン群 (FC 群) で強い IFN- γ 産生と癌特異的 CTL 活性を認めたが、FC と CpG の併用ワクチン群 (FC+CpG 群) ではさらに増強されることを見出した。そこで、Ag が既知の B16BL6 細胞と Ag が未知の RENCA 細胞を用い、ワクチン2回接種後 10 日目に皮下腫瘍モデルを作製して腫瘍径、生存率、腫瘍未形成率を検討したところ、いずれの腫瘍モデルでも FC+CpG 群は FC 群に比し副作用なく有意な抗腫瘍効果を認めた。B16BL6 細胞を用いた自然肺転移モデルにおいても、FC+CpG 群は有意に肺転移を抑制することを認めた。従って、FC は既知の Ag だけでなく未知の Ag も提示することができ、それによる抗腫瘍効果は CpG で増強することが分かった。
4. さらに、皮下腫瘍モデルで腫瘍未形成に済んだマウスに 60 日後 2 回目の皮下腫瘍を作製したところ、FC+CpG 群はすべて 2 回目も腫瘍を拒絶できたが FC 群は 40% しか腫瘍を拒絶できなかったことから、CpG は FC によって誘導された癌特異的免疫を単に増強するだけでなく長期間維持することが示唆された。

〔総括〕

不活化 HVJ を用いて、DC と癌細胞の融合細胞 (FC) を作成しえた。FC+CpG 群は FC 群に比し有意な抗腫瘍効果、長期間の免疫誘導を認めた。その機序として、CpG のアジュバント効果による DC、FC の抗原提示能増強および Th1 サイトカイン産生増強に基づく CTL 誘導促進と、おそらく CpG 刺激で DC から産生された IL-15 を介したメモリー CD8+T cell の増殖促進・生存延長による免疫維持の可能性が示唆された。

以上のように、単離精製する必要なく様々な Ag を提示させうる FC と免疫増強効果かつ免疫維持効果を有する CpG の併用ワクチンは、癌の再発予防、微小残存癌・微小転移癌の新規治療法として有用である。

論文審査の結果の要旨

本研究では、癌に対する新規免疫療法として、不活化した HVJ (センダイウイルス) を用いて樹状細胞と癌細胞を融合して生じた融合細胞と、体内を CTL が誘導されやすい Th1 環境にする CpG オリゴ核酸との併用ワクチンを開発した。融合細胞は、癌特異的 CTL の誘導に必要な、樹状細胞由来の MHC class I・II および補助刺激分子と癌細胞由来の様々な癌抗原を有し、既知の癌抗原・未知の癌抗原を含む多種の癌抗原をまとめて提示することで、融合細胞ワクチン単独でもマウスにおいて癌予防効果を認めたが、CpG オリゴ核酸をアジュバントとして併用することでさらに強力な癌予防効果と誘導された癌特異的免疫が長期間維持されることを見いだした。

このように、様々な癌抗原を提示しうる融合細胞と、免疫増強効果かつ免疫維持効果を有する CpG オリゴ核酸との併用ワクチンは、長期的な癌再発予防を目的とした新規補助療法および微小残存癌・微小転移癌の新規治療法になりうる可能性を示唆している。以上より、本研究は学位授与に値すると考えられる。